

Mgr inż. Małgorzata CZERWONKA
Dr inż. Arkadiusz SZTERK
Dr hab. Bożena WASZKIEWICZ-ROBAK, prof. SGGW
Katedra Żywności Funkcjonalnej i Towaroznawstwa
Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, SGGW w Warszawie

OCENA WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWIUTLENIAJĄCYCH I ZAWARTOŚĆ ZWIĄZKÓW POLIFENOLOWYCH W PRODUKTACH PSZCZELICH®

Produkty pszczele od wieków wykorzystywane są w medycynie naturalnej. Obecnie stanowią popularny składnik suplementów diety i produktów funkcjonalnych. Ich właściwości prozdrowotne wynikają z obecności substancji bioaktywnych, w znacznej mierze o właściwościach przeciwutleniających. Celem pracy badawczej była charakterystyka produktów pszczelich, miodów i pyłków pszczelich, pod kątem ich aktywności przeciwutleniającej oraz zawartości związków polifenolowych. Materiał badawczy stanowiło dziewięć rynkowych gatunków miodów oraz pięć próbek pyłków pszczelich. Prowadzone badania wykazały, że aktywność przeciwutleniająca miodów zawierała się w granicach od 0,11 mmol troloksu (TEAC)/100g (nektar akacjowy) do 0,43 mmol TEAC/100g (nektar gryczany), dla pyłków natomiast wyniosła średnio 9,96 mmol TEAC/100g. Zawartość związków polifenolowych w produktach pszczelich była ściśle skorelowana z ich aktywnością antyoksydacyjną i wynosiła średnio dla miodów 22,5 mg kwasu galusowego (GAE)/100g, natomiast dla pyłków 1008,3 mg GAE/100g produktów.

Słowa kluczowe: produkty pszczele, miód, pyłek pszczeli, aktywność przeciwutleniająca, polifenole.

WSTĘP

Produkty pszczele od wieków wykorzystywane były i są nadal w medycynie naturalnej w prewencji i leczeniu wielu schorzeń. Apiterapię (łac.: apis – pszczoła, terapia – leczenie) stosowano w chorobach układu krążenia, oddechowego, pokarmowego, moczowego oraz skóry, błon śluzowych i wielu innych [25]. Obecnie trwają badania nad naukowym potwierdzeniem lub odrzuceniem powyższych właściwości. Wiadomo natomiast, że produkty pszczele są źródłem wielu cennych substancji, zarówno odżywczych, jak i o właściwościach bioaktywnych, takich jak związki polifenolowe, witaminy, kwasy organiczne, witaminy, peptydy, enzymy. Większość z nich posiada silne właściwości przeciwutleniające, dzięki którym może wpływać na nasz organizm. Tak więc ocena właściwości antyoksydacyjnych produktów pszczelich może pośrednio wskazywać na potencjalne właściwości prozdrowotne [11, 17, 24, 25].

Wśród produktów pszczelich należy rozróżnić: miód, pyłek pszczeli, kit pszczeli, propolis, jad pszczeli, mleczko pszczele, wosk pszczeli oraz zioło miody [17, 24, 25]. Z wyżej wymienionych największą popularnością wśród konsumentów cieszy się miód, a następnie pyłek pszczeli. Miód jest to naturalnie słodki produkt, wytwarzany przez pszczoły *Apis mellifera* przez łączenie z własnymi specyficznymi substancjami nektaru roślin lub wydzielin żywych części roślin, lub wydalin owadów ssących soki żywych części roślin, składowanym, odparowywanym i pozostawionym do dojrzewania w plastrach.

Miody wg pochodzenia można podzielić na:

– Nektarowe: wytwarzane przez pszczoły z nektaru roślin, wydzielanego z nektarników kwiatowych lub pozakwiatowych. W tej grupie można rozróżnić miody pochodzące

z jednej rośliny, określone nazwą tej rośliny, lub miody wielokwiatowe;

– Spadziowe: wytwarzane przez pszczoły głównie z wydalin owadów ssących soki żywych części roślin lub wydzielin żywych części roślin. Wśród miodów spadziowych rozróżniane są miody ze spadzi iglastej oraz ze spadzi liściastej;

– Nektarowo-spadziowe [9, 17]

Właściwości przeciwutleniające miodów determinowane są głównie przez gatunek rośliny z jakiej pochodzą, czynniki środowiskowe oraz procesy technologiczne. W skład miodu wchodzi ponad 180 różnych związków aktywnych, wśród których są enzymy, aminokwasy, kwasy organiczne, karotenoidy, produkty reakcji Maillarda, witaminy, składniki mineralne i związki polifenolowe. Tym ostatnim przypisywany jest największy udział w kształtowaniu aktywności przeciwutleniającej miodów [1, 6, 17, 25].

Pyłek pszczeli (pierzga) jest to substancja, która powstaje w wyniku fermentacji obnoża. Naturalnie przetworzony przez pszczoły pyłek kwiatowy, który dodatkowo został wzbogacony wydzielinami organizmów pszczół. Pomimo faktu, że bardzo łatwo jest określić z jakiej rośliny dany pyłek pochodzi, choćby na podstawie barwy, dotychczas nie wprowadzono klasyfikacji tego produktu, jak to ma miejsce w przypadku miodów [9, 16, 22]. Pyłek pszczeli jest to produkt szczególnie bogaty w białko, tłuszcz, składniki mineralne, witaminy, związki polifenolowe oraz karotenoidy, dzięki czemu przypisywane są mu szczególne właściwości prozdrowotne [3, 4, 16].

Celem artykułu jest prezentacja właściwości przeciwutleniających i zawartości związków polifenolowych miodów nektarowych, spadziowych i nektarowo-spadziowych oraz pyłków pszczelich.

MATERIAŁ I METODYKA

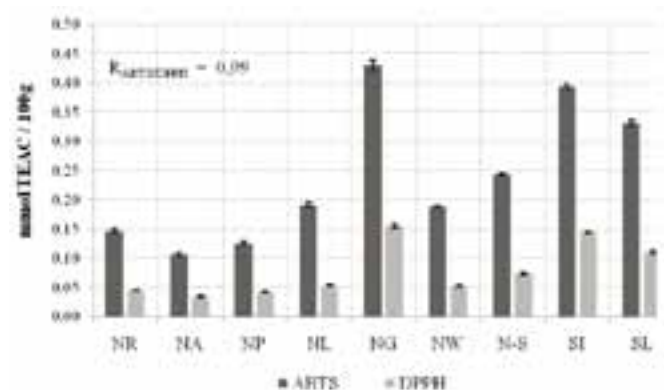
Materiał badawczy stanowiło pięć próbek rynkowych pyłków pszczelich (P1-P5) oraz dziewięć gatunków miodów, ze zbioru z 2009 roku:

- Nektarowych:
 - Gryczany NG
 - Rzepakowy NR
 - Lipowy NL
 - Akacjowy NA
 - Pomarańczowy NP
 - Wielokwiatowy NW
- Spadziowych:
 - ze spadzi iglastej SI
 - ze spadzi liściastej SL
- Nektarowo-spadziowych N-S.

Aktywność przeciwutleniającą oznaczono za pomocą dwóch metod kolorymetrycznych, z wykorzystaniem rodników ABTS i DPPH. Wyniki obu analiz podano w mmol (molach) Troloksu (TEAC) na 100g produktu [12, 20]. Zawartość związków polifenolowych ogółem wykonano metodą kolorymetryczną z odczynnikiem Folin-Ciocalteu'a, wyrażając wyniki w mg kwasu galusowego (GAE) na 100g produktu [18, 19, 21, 23]. Oznaczenia wykonano w trzykrotnym powtórzeniu.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programów Statistica 8 i Microsoft Excel 2007. W celu wykazania istotności różnic pomiędzy próbkami zastosowano test t-Studenta, przy $\alpha = 0,05$. Różnica uznana została za istotną statystycznie, gdy $p \leq \alpha$. Zależności pomiędzy zmiennymi wyrażono za pomocą współczynnika korelacji.

WYNIKI I DISKUSJA



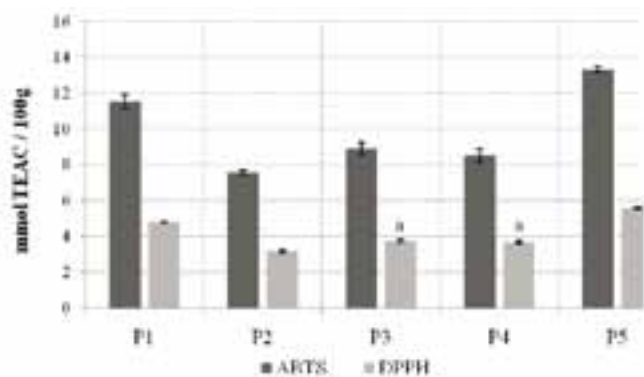
Rys. 1. Właściwości przeciwutleniające miodów oznaczone metodą z rodnikami ABTS oraz DPPH.

Aktywność antyoksydacyjna miodów (rys. 1) oznaczona metodą ABTS zawierała się w granicach 0,11 do 0,43 mmol TEAC/100g, natomiast metodą DPPH od 0,03 do 0,016 TEAC/100g. Najniższymi właściwościami przeciwutleniającymi charakteryzowały się nektary akacjowy i rzepakowy, natomiast najwyższymi nektar gryczany. Różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$) występowały pomiędzy wszystkimi próbkami miodów. W badaniach innych autorów [2, 7, 8, 10, 15, 17] również wykazywano znaczne rozbieżności w zależności od

gatunku miodu, rośliny z jakiej pochodzi. Ponadto odmienna aktywność przeciwutleniająca mogła wynikać z regionu z jakiego produkt pochodził.

Znacznie wyższą ($p < 0,05$) aktywnością przeciwutleniającą charakteryzowały się miody spadziowe, w porównaniu do miodów nektarowych. Istotnie różniły się też miody nektarowe od nektarowo-spadziowych. Miód nektarowy gryczany oraz miody spadziowe (SL i SI) zaliczane są do tzw. miodów ciemnych [8]. Aktywność przeciwutleniająca tej grupy zdecydowanie przewyższała ($p < 0,05$) aktywność miodów innych gatunków. W badaniach Ferreiry i wsp. (2009) stopień redukcji rodników (DPPH) był ponad trzykrotnie wyższy w miodach ciemnych niż jasnych, podobnie jak zawartość poszczególnych związków bioaktywnych [10].

Obecnie istnieje wiele badań prezentujących aktywność przeciwutleniającą miodów, jednak wyniki bardzo często przedstawione są w postaci indeksów lub w procentach zmiatania relatywnie stabilnych rodników [2, 7, 10, 13, 14, 17]. Taki sposób przedstawienia wyników jest poprawny, jednak znacznie utrudnia porównanie danych pomiędzy badaniami, ponieważ należy uwzględniać zarówno rozcieńczenie próbki, jak i rozcieńczenie roztworu rodnikowego [12]. Przeliczenie na konkretne jednostki takie jak mmol troloksu bądź kwercetyny zdecydowanie ułatwiają analizę danych.



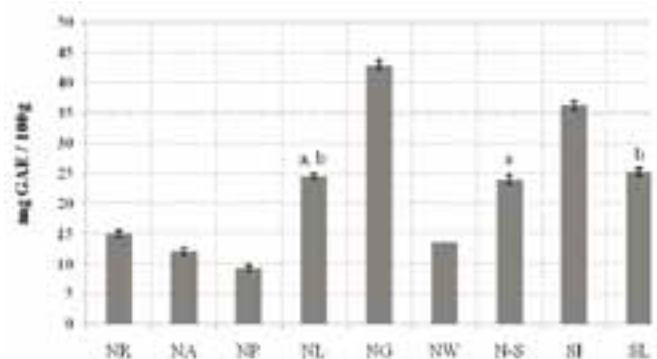
Rys. 2. Właściwości przeciwutleniające pyłków pszczelich; a – $p > 0,05$.

Aktywność przeciwutleniająca pyłków pszczelich (rys. 2) oznaczona metodą ABTS wynosiła od 7,34 do 13,32 mmol TEAC/100g, natomiast metodą DPPH od 3,19 do 5,60 mmol TEAC/100g. Pomiędzy dwiema próbkami nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie. W innych badaniach różnice w zdolności zmiatania rodników (DPPH) były znacznie wyższe, niekiedy aż siedmiokrotnie [14]. Podobnie jak w przypadku miodów istnieją doniesienia mówiące o wyższej aktywności pyłków pszczelich posiadających ciemniejszą barwę [22, 24].

Oceniając aktywność antyoksydacyjną produktów pszczelich bardzo istotnym jest odniesienie jej do innego rodzaju asortymentu. Miody w porównaniu do innych produktów żywnościowych takich jak warzywa, owoce, używki mają średnią, bądź niską aktywność przeciwutleniającą, natomiast pyłki pszczele wysoką. Przeciętnie warzywa posiadają właściwości przeciwutleniające w granicach 0,04 – 0,80 mmol TEAC/100g, owoce 0,07 – 1,68 mmol TEAC/100g natomiast kawa, herbata, wino 0,17 – 3,65 [5, 17]. W związku z powyższym należy uznać ograniczone właściwości miodów jako produktów funkcjonalnych / prozdrowotnych, bądź zweryfikować

przydatność oznaczenia właściwości przeciwutleniających do oceny jakości tej grupy produktów.

Aktywność przeciwutleniająca produktów pszczelich oznaczona metodą DPPH stanowiła 33% dla miodów i 42% dla pyłków aktywności przeciwutleniającej oznaczonej metodą ABTS. Istniała jednak bardzo silna korelacja ($R = 0,99$) pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą miodów i pyłków pszczelich oznaczoną obiema metodami. Zasada oznaczenia aktywności przeciwutleniającej obiema metodami jest bardzo podobna, jednak przebieg samej reakcji już nie. Metoda ABTS polega na przeniesieniu pojedynczego elektronu (reakcja typu SET), natomiast DPPH na przeniesieniu atomu wodoru (reakcja typu HAT). Ponadto różne jest powinowactwo rodników do konkretnych substancji/grup substancji [12, 20]. Metoda z rodnikami ABTS charakteryzuje się większą czułością niż metoda DPPH, natomiast rodniki DPPH są bardziej stabilne. W badaniach Lachmana i wsp., aktywność przeciwutleniająca miodów oznaczona za pomocą metody DPPH stanowiła od 25,2% do 41,4% aktywności przeciwutleniającej tych produktów oznaczonej metodą ABTS [13].

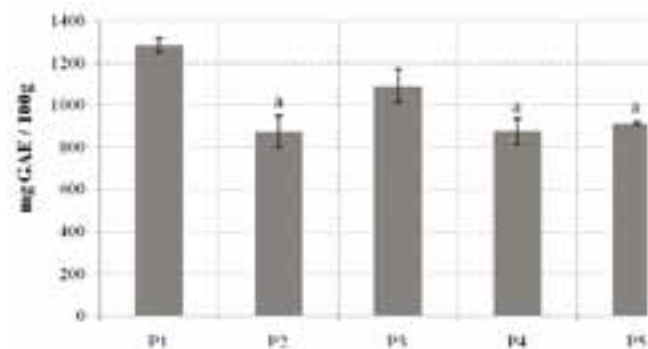


Rys. 3. Zawartość związków polifenolowych ogółem w miodach; a, b – $p > 0,05$.

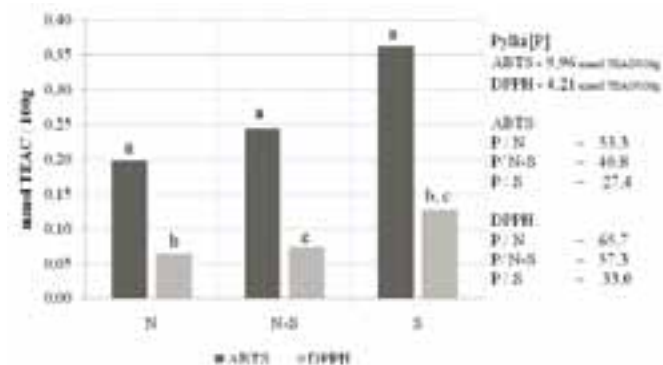
Zawartość związków polifenolowych w miodach (rys. 3) kształtowała się w granicach od 9,3 do 43,0 mg GAE/100g. Najniższą zawartością polifenoli charakteryzował się nektar pomarańczowy, natomiast najwyższą nektar gryczany. Pomiedzy nektarem lipowym i miodem nektarowo-spadziowym oraz nektarem lipowym i miodem ze spadzi liściastej nie wykazano różnic ($p > 0,05$) w zawartości związków polifenolowych. W przypadku pozostałych miodów różnice te były istotne statystycznie.

Zawartość związków polifenolowych w miodach wg. Al i wsp. (2009) wahała się od 2 do 45 mgGAE/100g w miodach nektarowych i od 23 do 125 mgGAE/100g w miodach spadziowych [2]. Podobne wyniki uzyskała Beretta i wsp. (2005), według których miód akacjowy posiadał 5,2 mgGAE/100g, miod spadziowy 25,6 mgGAE/100g, natomiast nektar gryczany 48,2 mgGAE/100g produktu [7].

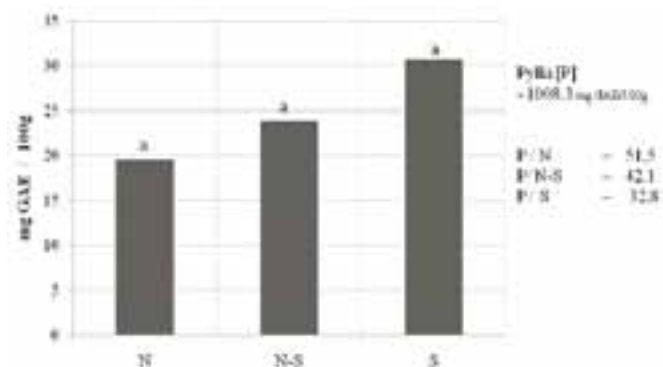
Zawartość związków polifenolowych w badanych pyłkach pszczelich (rys. 4) wynosiła od 874,9 do 1285,3 mg GAE/100g produktu. Trzy próbki pyłków nie różniły się ($p > 0,05$) od siebie pod kątem zawartości polifenoli ogółem. W badaniach LeBlanc i wsp. (2009) oznaczona zawartość związków polifenolowych ogółem w pyłkach pszczelich była znacznie wyższa i wynosiła od 1591 do 3485 mgGAE/100g [13].



Rys. 4. Zawartość związków polifenolowych ogółem w pyłkach pszczelich; a – $p > 0,05$.



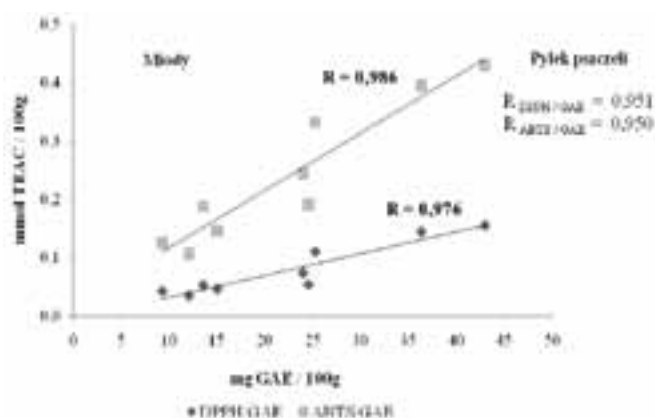
Rys. 5. Aktywność przeciwutleniająca grup produktów pszczelich: miodów [nektarowych – N, nektarowo-spadziowych – N-S i spadziowych – S] i pyłków pszczelich oraz zależności pomiędzy tymi produktami; a, b, c – $p < 0,05$.



Rys. 6. Zawartość związków polifenolowych w grupach produktów pszczelich: miodach [nektarowych – N, nektarowo-spadziowych – N-S i spadziowych – S] i pyłkach pszczelich oraz zależności pomiędzy tymi produktami; a – $p < 0,05$.

Pyłki pszczele charakteryzowały się zdecydowanie wyższą aktywnością przeciwutleniającą, jak i zawartością związków polifenolowych niż miody (rys. 5 i 6). Średnia aktywność przeciwutleniająca oznaczona metodą ABTS pyłków była wyższa od grup miodów: nektarowych, nektarowo-spadziowych, spadziowych, odpowiednio o 53,3; 40,8 oraz 27,4 razy. Średnia zawartość związków polifenolowych w pyłkach pszczelich była wyższa o 51,5; 42,1 oraz 32,8 razy od odpowiednio miodów nektarowych, nektarowo-spadziowych i spadziowych. W badaniach Baltrusaityte i wsp. (2007) pyłki pszczele również wykazywały wyższy potencjał

przeciwutleniający niż miody, jednak różnice nie były tak znaczne jak w niniejszym badaniu [5].



Rys. 7. Korelacja pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą, a zawartością związków polifenolowych w miodach i pyłkach pszczelich.

W badaniach zaobserwowano silną korelację (rys. 7) pomiędzy zawartością związków polifenolowych, a aktywnością przeciwutleniającą, zarówno dla miódów ($R_{ABTS/GAE} = 0,99$; $R_{DPPH/GAE} = 0,98$), jak i pyłków pszczelich ($R_{ABTS/GAE} = 0,95$; $R_{DPPH/GAE} = 0,95$). W badaniach innych autorów zaobserwowano również silną zależność [7, 12].

PODSUMOWANIE

Uzyskane wyniki pozwoliły na następujące stwierdzenia:

1. Produkty pszczele charakteryzują się bardzo zróżnicowaną zawartością związków polifenolowych (9,3 - 1285,3 mg GAE / 100g) i aktywnością przeciwutleniającą (0,11 - 13,32 mmol TEAC / 100g);
2. Pyłki pszczele posiadają ponad czterdziestokrotnie wyższą aktywność przeciwutleniającą oraz zawartość związków polifenolowych niż miody;
3. Miody spadziowe charakteryzują się istotnie wyższym potencjałem przeciwutleniającym i zawartością związków polifenolowych niż miody nektarowe i nektarowo-spadziowe.
4. Istnieje silna korelacja pomiędzy zawartością związków polifenolowych w produktach pszczelich, a ich właściwościami przeciwutleniającym.

LITERATURA

- [1] ANTONY S.M., HAN I.Y., RIECK J.R., DAWSON P.L. 2000. Antioxidative effect of Maillard reaction products formed from honey at different reaction times. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (9), 3985–3989;
- [2] AL M.L., DANIEL D., MOISE A., BOBIS O., LASLO L., BOGDANOV S. 2009. Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*, 112 (4), 863–867.
- [3] ALMEIDA-MURADIAN L.B., PAMPLONA L.C., COIMBRA S., BARTH O.M. 2005. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18 (1), 105–111.
- [4] BAKIER S. 2005. Analiza wykorzystania podajnika P-10 do wytwarzania mieszanin miodu z pyłkiem kwiatowym. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, WSM, Warszawa, 2, 37–40.
- [5] BALTRUSAITYTE V., VENSKUTONIS P.R., CEKSTERYT V. 2007. Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts. *Food Chemistry*, 101 (2), 502–514.
- [6] BEEKWILDER J., HALL R.D., RIC DE VOS C.H. 2005. Identification and dietary relevance of antioxidants from raspberry. *BioFactors*, t. 23, 4, s. 197–205.
- [7] BERETTA G., GIANGIACOMO., GRANATA P., FERRERO M., ORIOLI M., MAFFEI FACINO R. 2005. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533 (2), 185–191.
- [8] BERTONCELJ I DOBERŠEK U., JAMNIK M., GOLOB T. 2007. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 105, 822–828.
- [9] Dz.U. 2003 nr 181 poz. 1773. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 3 października 2003 r. w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej miodu.
- [10] FERREIRA I.C.F.R., AIRESE E., BARREIRA J.C.M., ESTEVINHO L.M. 2009. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*, 114 (4), 1438–1443.
- [11] GHELDOLF N. WANG X., ENGESETH N. 2001. Characterization of the antioxidants in honeys from different floral sources. Presented at Annual Meeting, Institute of Food Technologists, Dallas, USA, 11–14 June.
- [12] GRAJEK W. (RED.) 2007. *Przeciwutleniacze w żywności*. WNT, Warszawa.
- [13] LACHMAN J., ORSÁK M., HEJTMÁNKOVÁ A., KOVÁŘOVÁ E. 2010. Evaluation of antioxidant activity and total phenolics of selected Czech honeys. *Food Science and Technology*, 43 (1), 52–58.
- [14] LEBLANC B.W., DAVIS O.K., BOUE S., DELUCCA A., DEEBY T. 2009. Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. *Food Chemistry*, 115 (4), 1299–1305.
- [15] KESIĆ A., MAZALOVIĆ M., CRNKIĆ A., ČATOVIĆ B., HADŽIDEDIĆ S. 2009. The Influence of L-Ascorbic Acid Content on Total Antioxidant Activity of Bee-Honey. *European Journal of Scientific Research*, EuroJournals Publishing, 95–101.
- [16] KROYER G., HEGEDUS N. 2001. Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2 (3), 171–174.
- [17] NAGAI T., SAKAI M., INOUE R., INOUE H., SUZUKI N. 2001. Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. *Food Chemistry*, 75 (2), 237–240.
- [18] PELLEGRINI N., SERAFINI M., COLOMBI B., DEL RIO D., SALVATORE S., BIANCHI M., BRIGHENTI F. 2003. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils

consumed in Italy assessed by three different *in vitro* assays. *The Journal of Nutrition*, 133 (9), 2812-9.

- [19] **PRIOR R.L., WU X z., SCHAICH K. 2005.** *Standardized methods for the determination of antioxidant capacity foods and dietary supplements.* *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (10), 4290-4302.
- [20] **RE R., PELLEGRINI N., PROTEGGENTE A., PANNALA A., YANG M., RICE-EVANS C. 1999.** *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay.* *Free Radical Biology & Medicine*, 9-10 (26), 1231-1237.
- [21] **ROURA E., ANDRES-LACUEVA C., ESTRUCH R., LAMUELA-RAVENTOS R. M. 2006.** *Total polyphenol intake estimated by a modified Folin-Ciocalteu assay of urine.* *Clinical Chemistry*, 4 (52), 749-752.
- [22] **SILVA T.M.S., CAMARA C.M., DA SILVA LINS A.C., BARBOSA-FILHO J.M., DA SILVA E.M.S., FREITAS B.M., DE ASSIS RIBEIRO DOS SANTOS F. 2006.** *Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke.* *Journal of Food Composition and Analysis*, 19 (6-7), 507-511.
- [23] **SINGLETON V.L., ROSSI JR. J.A. 1965.** *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents.* *American Journal of Enology and Viticulture*, 3 (16), 144-158.
- [24] **SOCHA R., JUSZCZAK L., PIETRZYK S., FORTUNA T. 2009.** *Antioxidant activity and phenolic composition of herbhoneys.* *Food Chemistry*, 113 (2), 568-574
- [25] **VIUDA-MARTOS M., RUIZ-NAVAJAS Y., FERNANDEZ-LOPEZ, J., PEREZ-ALVAREZ J.A. 2008.** *Functional properties of honey, propolis, and royal jelly.* *Journal Of Food Science*, 73 (9), 117-124.

EVALUATION OF ANTIOXIDANT PROPERTIES AND TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS CONTENT OF BEE PRODUCTS

SUMMARY

Since ages bee products are used in natural medicine. Nowadays they are popular ingredient of dietary supplements and functional products. Their healthy properties are the result of bioactive substances content, largely due to antioxidant properties. The purpose of this study was to characterize bee products, honey and bee pollen, for their antioxidant properties and total phenolic compounds content. The experimental material consisted of nine species of market honey, and five samples of bee pollen. Honey contains antioxidant activity ranged from 0.11 mmol trolox (TEAC)/100g (acacia nectar) to 0.43 mmol TEAC/100g (buckwheat nectar); for the pollen averaged activity was 9.96 mmol TEAC/100g. The content of polyphenolic compounds in bee products was closely correlated with their antioxidant activity, and for honey it was averaged 22.5 mg gallic acid (GAE)/100g, while for pollen 1008.3 mg GAE/100g products.

Key words: *bee products, honey, bee pollen, antioxidant activity, polyphenols.*